



TITLE:

# キラル放射性薬剤を用いた神経伝達機能の非侵襲画像評価法の開発と臨床診断への応用

AUTHOR(S):

佐治, 英郎

---

CITATION:

佐治, 英郎. キラル放射性薬剤を用いた神経伝達機能の非侵襲画像評価法の開発と臨床診断への応用. 2002

ISSUE DATE:

2002-03

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/85154>

RIGHT:

学術雑誌掲載論文の抜き刷り、出版社に著作権許諾が得られていないため未掲載。

# キラル放射性薬剤を用いた神経伝達機能の非侵襲画像評価法の開発と臨床診断への応用

(課題番号：12557205)

平成12年度～平成13年度科学研究費補助金（基盤研究(B)(2)）  
研究成果報告書

平成14年3月



研究代表者 佐治 英郎  
(京都大学薬学研究科教授)

## はしがき

最近、脳や心筋などにおける神経伝達系に関連する疾患の増加に伴い、その正確な診断法の開発が臨床上強く求められている。近年急速に進歩したX線CTや磁気共鳴イメージング（MRI）は脳内の形態学的な変化を高精度で検出することが可能であるが、神経疾患に於いては、形態学的変化を伴わない、あるいはそれを生じる以前に機能障害を生じる疾患が多く、それら疾患の早期診断、治療法の選択と有効性の評価などには神経伝達機能の情報が不可欠である。そこで、神経伝達機能に直接関与する放射性化合物を投与し、その対象臓器や組織内での動態を指標として、対象神経伝達系の機能に関するインビボでの情報を得ることが可能である、ポジトロンCT（PET）やシングルフォトンCT（SPECT）を用いた神経伝達機能の核医学画像診断法の開発が強く望まれている。また、最近の技術の進歩により測定器の解像力が増し、本研究法は実験動物にも応用可能となりつつあることから、その開発は、薬理学、生理学、薬剤学などの研究分野においても有効な手法として期待されている。

そこで、本研究では、ノルアドレナリンおよびアセチルコリン神経伝達機能を対象として、測定対象機能発現分子との結合親和性に高い親和性を有する放射性リガンドを光学活性を含めて構造-活性相関に関する検討を基に設計・開発し、その光学活性放射性リガンドとPETやSPECTによる核医学放射線画像計測法とを用いて、生きている脳や心筋での神経伝達機能をインビボで定量画像解析する方法を開発し、それを基礎とした、新しい脳、心筋機能の実験評価法、さらにその臨床核医学診断学への応用性を考察する。



## 研究組織

研究代表者： 佐治 英郎 (京都大学薬学研究科 教授)  
 研究分担者： 間賀田泰寛 (浜松医科大学・光量子医学研究センター 教授)  
 研究分担者： 福山 秀直 (京都大学医学研究科 教授)  
 研究分担者： 大桃 善朗 (大阪薬科大学 助教授)  
 研究分担者： 東 眞 (日本メジフィジックス株式会社・創薬研究所 所長(研究職))

## 交付決定額 (配分額)

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合 計
平成12年度	9, 6 0 0	0	9, 6 0 0
平成13年度	3, 2 0 0	0	3, 2 0 0
総 計	1 2、8 0 0	0	1 2、8 0 0

## 研究発表

### (1) 学会誌等

1. Y.Kiyono, Y.Iida, H.Kawashima, N.Tamaki, H.Nishimura, and H.Saji  
Regional alterations of myocardial norepinephrine transporter density in streptozocin-induced diabetic rats: implications for heterogeneous cardiac accumulation of MIBG in diabetes.  
Eur. J. Nucl. Med., 28, 894-899(2001).
2. Y.Kiyono, Y.Iida, H.Kawashima, M.Ogawa, N.Tamaki, H.Nishimura, and H.Saji  
Norepinephrine transporter density as causative factor in alterations in MIBG myocardial uptake in NIDDM model rats.  
Eur. J. Nucl. Med., in press.
3. Y.Kiyono, N.Kanekawa, H.Kawashima, Y.Iida, T.Kinoshita, N.Tamaki, H.Nishimura, M.Ogawa and H.Saji.  
Age-related changes of myocardial norepinephrine transporter density in rats: implications of differential cardiac accumulation of MIBG in aging  
Nucl. Med. BIOL., in press.
4. H.Kitano, Y.Magata, A.Tanaka, T.Mukai, Y.Kuge, K.Nagatsu, J.Konishi, and H.Saji  
Performance assessment of O-18 water purifier  
Ann. Nucl. Med., 15, 75-78(2001).
5. Hideo Saji, Mikako Ogawa, Masashi Ueda, Yasuhiko Iida, Yasuhiro Magata, Akiko Tominaga, Hidekazu Kawashima, Youji Kitamura, Masaki Nakagawa, Yasushi Kiyono and Takahiro Mukai  
Evaluation of radioiodinated 5-iodo-3-(2(S)-azetidinylmethoxy)pyridine as a ligand for SPECT investigations of brain nicotinic acetylcholine receptors  
Ann. Nucl. Med., in press

## (2) 口頭発表

1. 飯田靖彦、小川美香子、中川雅喜、間賀田泰寛、佐治英郎  
SPECT用ニコチン性アセチルコリンレセプター機能診断薬剤の開発  
第40回 日本核医学会(神戸) 平成12年11月4日
2. 清野 泰、金川直樹、河嶋秀和、飯田靖彦、佐治英郎  
STZ 糖尿病ラットの心臓における norepinephrine transporter 機能の基礎的検討  
第40回 日本核医学会(神戸) 平成12年11月4日
3. 金川直樹、清野 泰、河嶋秀和、飯田靖彦、佐治英郎  
脳内ノルエピネフリントランスポーター結合放射性薬剤の開発  
日本薬学会121年会(札幌) 平成13年3月28日
4. 金川直樹、清野 泰、河嶋秀和、北村陽二、飯田靖彦、佐治英郎  
脳内アドレナリン作動性神経機能診断放射性薬剤の開発  
日本薬学会122年会(千葉) 平成14年3月27日

## 研究成果

本研究では、光学活性な放射性リガンドと核医学放射線画像計測法とを用いて、脳、心筋での神経伝達機能をインビボで定量画像解析する方法を開発し、脳および心筋での神経疾患の新しい臨床核医学診断法を提案することを目的として、具体的に次に述べる研究実施計画を立て、これにしたがって研究を行い、それぞれの成果を修めた。以下に順次報告する。

### 1. 研究実施計画

本研究の目的は、光学活性な放射性リガンドとPETやSPECTによる核医学放射線画像計測法とを用いて、生きている脳での神経伝達機能をインビボで定量画像解析する方法を開発し、それを基礎とした、新しい脳機能の実験評価法、さらに脳神経疾患の新しい臨床核医学診断法を提案することにある。

脳内のレセプター機能の変化を核医学画像解析法により解析するための放射性機能探索分子としては、計測に適した放射性核種での標識、合成の容易性、極低濃度の脳内のレセプターの高感度検出に応じた高い比放射能、対象レセプターへの高い親和性と選択性、脳への高い移行性、解析に適した体内動態等の条件が要求される。特に、光学活性体には、分子量、分子サイズ、脂溶性などの物理化学的性質は同じであるために脳移行性は相違しないが、測定対象である脳内のレセプターやトランスポーターとの結合あるいは酵素との親和性のみが大きく異なるものがあるから、光学純度の高いリガンドの創製が必要である。

本研究では、画像解析に適した放射能の性質を有し、放射化学的研究の進展により近年レセプター機能の核医学画像解析分野への利用が可能となったヨウ素-123(I-123)を放射性核種として選択するとともに、将来PETへの応用も考えてフッ素-18(F-18)についても基礎的に検討した。

そこで、上記の条件を考慮して、放射性機能探索分子設計のための母体化合物として、ノルアドレナリン神経系に対してはシナプス前膜に存在するノルアドレナリントランスポーターへの親和性が高いトモキセチン、アセチルコリン神経系に対してはニコチン性アセチルコリンレセプターへの親和性が高い(S)ニコチンを選択する方針が最も合理的

であると考え、それぞれの分子とトランスポーターまたはレセプターとの相互作用を考慮して、放射性ヨウ素導入部位を設計し、目的化合物を合成、得られた化合物の動物での体内動態を検討するとともに、将来PETへの応用も考えてF-18の効率よい製造についても検討することを計画した。

## 2. 研究成果

### 1) ノルエピネフィリン神経機能のインビボ画像解析のための放射性機能探索分子の開発

脳幹の青斑核 (locus coeruleus: LC) を起始核とするノルアドレナリン作動性神経 (NA神経) は、様々な精神疾患との関連が報告されているがその詳細は解明されておらず、NA神経機能診断薬剤の開発が望まれている。また、心臓交感神経機能診断薬剤である [ $^{123}\text{I}$ ] MIBG の集積が糖尿病患者で低下することが臨床診断で報告されていたが、その原因は明確でない。そこで、MIBG の交感神経への取り込みに関与するタンパク質である norepinephrine transporter (NET) に着目して、糖尿病モデルラットを用いて NET 発現の変化を解析した結果、遺伝子レベルでは発現に変化が無いが、タンパク質レベル、即ち NET 自身の密度が低下していることを見出した。この結果をふまえ、NET の変化を診断指標とすることは脳や心筋での NA 神経機能を診断するうえで有効であると考え、NET に選択的に結合する NET 機能探索用放射性リガンドの開発を計画した。

神経系のトランスポーターやレセプターの機能の変化を核医学画像解析法により解析するための放射性機能探索分子を設計する方針として、対象酵素やレセプターに高い親和性を有する化合物を母体化合物として、その酵素やレセプターに反応する部分を保持しながら、一方で、その反応に影響を与えないで、かつ放射性ヨウ素を化学的、代謝的に安定して導入する部位を同時に有する分子を構築することを考えた。すなわち、選択的 NET 阻害剤である nisoxetine、tomoxetine などの 3-phenoxy-3-phenylpropanamine 類に着目して、この骨格において phenoxy 基に導入された置換基の位置が、monoamine transporter への選択的な結合に重要であり、Nisoxetine、tomoxetine は 2 位にそれぞれ methoxy、methyl 基が導入されていることから、phenoxy 基 2 位に放射性ヨウ素を導入した (R)-N-methyl-3-(2-[ $^{125}\text{I}$ ]iodophenoxy)-3-phenylpropanamine ((R)-[ $^{125}\text{I}$ ]MIPP) を設計合成し、その基礎的検討を行った。その結果、(R)-MIPP は NET に対して nisoxetine よりも約 2 倍高い親和性を持つこと、また (R)-[ $^{125}\text{I}$ ]MIPP を用いた結合阻害実験により、本化合物の結合は、nisoxetine では阻害を受けるが、SERT 阻害剤である fluoxetine や dopamine transporter (DAT) 阻害剤である GBR12909 によっては阻害を受けず、NET に対し選択的であることが示された。また、マウスを用いて体内分布を検討した結果、NA 神経の投射が多いといわれている青斑核や視床前核群への高い放射能集積が認められ、神経投射に相関した分布を示した。詳細は別刷 1～5 に記載する。

### 2) 中枢性ニコチンレセプター機能のインビボ画像解析のための放射性機能探索分子の開発

最近、記憶・学習・認知などの脳機能への脳内ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) の関与が注目されている。そこで核医学的手法を用いれば、ヒトでの nAChR の脳機能への関与を非侵襲的にインビボで把握できる可能性があり、そのための核医学イメージング剤の開発が望まれている。本研究では、中枢性ニコチンレセプター機能のインビボ画像解析のための放射性機能探索分子設計にあたり、ニコチンレセプターへの親和性が高いこと、脳移行性が高いこと等の条件を考慮して、母体化合物として (S) ニコチン誘導体 A85380 を選択する方針が最も合理的であると考えた。さらに、ニコチン誘導体の構造とニコチンレセプターとの相互作用に関するデータを基礎に分子レベルでのレセプ

ター相互作用に加え、合成の容易性、特に、ニコチンには立体異性体があり、その異性体間でレセプターへの親和性に大きな差があることから、立体化学的に純度の高い合成が可能であること、体内での安定性等を考慮して、従来にないピリジン環の5位(メタ位)に放射性ヨウ素を導入した(S)-5-ヨード-A85380(5IA)を開発した。本化合物は、インビトロレセプターアッセイにより、(S)ニコチンの約10倍高いニコチンレセプター親和性を示すことを見出した。このことは、予想通り、A85380のピリジン環の5位の置換基はレセプターによる分子認識において大きな影響を与えないことが認め、ヨウ素導入部位としての5位の選択の有効性が示された。さらに、本化合物を動物に静注したところ、小脳に比べ視床や大脳皮質に高く放射能が集積し、ニコチンレセプターの密度に応じた脳内局所集積を示すことが明らかとなり、本化合物はインビボでも脳内のニコチンレセプターに結合していること、またその分布を核医学イメージングできることが示された。詳細は別刷6に記載する。

### 3) F-18標識化合物の効率よい合成を目的としたF-18生成の基礎的検討

F-18製造のターゲットであるO-18-水を核反応に使用後、UVで照射、低温で蒸留することにより、同位体純度の高いO-18-水を効率よく回収することができる装置を開発するとともに、得られたO-18-水がF-18標識化合物の合成に適していることを明らかにした。詳細は別刷7に記載する。

Diabetic rats have accumulated the heterogeneous myocardial accumulation of radioactivity in diabetes. In this study, we investigated the myocardial regional distribution of [ $^{125}$ I]MIBG and the effects of regional myocardial blood flow, myocardial norepinephrine (NE) content, and norepinephrine transporter (NET) function on regional [ $^{125}$ I]MIBG accumulation in streptozotocin-induced diabetic (STZ-D) rats. Double-isotope autoradiographic studies with [ $^{125}$ I]MIBG and technetium-99m labeled hexakis (2-methoxy-2-isobutylisocitrate) ( $^{99m}$ Tc-MIBI), a tracer for the measurement of myocardial blood flow, were carried out to investigate the changes in regional myocardial blood flow in STZ-D rats. Uptake of [ $^{125}$ I]MIBG was similar across the anterior wall and the inferior wall of control rats. On the other hand, in STZ-D rats, uptake of [ $^{125}$ I]MIBG in the inferior wall was significantly less than that in the anterior wall. Uptake of  $^{99m}$ Tc-MIBI was not significantly different between the anterior and inferior walls in control or STZ-D rats, indicating that myocardial blood flow did not change appreciably in either control or STZ-D rats and that regional flow was not responsible for the heterogeneity of the distribution of [ $^{125}$ I]MIBG in STZ-D rats. In STZ-D rats, cardiac NE concentrations determined using an HPLC-electrochemical detection (HPLC-ED) system were significantly decreased in both the anterior and the inferior wall, although there was no significant difference in NE concentration between the anterior and inferior walls in control or STZ-D rats. Furthermore, the density and

ing of [ $^{125}$ I]MIBG to cardiac membranes. The  $B_{max}$  values of the NET in the anterior wall were not significantly different between control and STZ-D rats, but the  $B_{max}$  value of the NET in the inferior wall was significantly lower in STZ-D rats than in controls. In conclusion, myocardial MIBG uptake was reduced in the inferior wall of STZ-D rats compared with control rats; this decrease was correlated with the decrease in NET density, but was not dependent on the regional myocardial blood flow and NE concentration. These results suggest that regional fluctuations in NET levels in the inferior wall contribute to heterogeneous MIBG accumulation in diabetes.

**Keywords:** [ $^{125}$ I]MIBG •  $^{99m}$ Tc-MIBI • Norepinephrine transporter • Diabetes • Myocardium

Eur J Nucl Med (2001) 26:894–899

DOI 10.1007/s002290100350

## Introduction

The use of carbon-125 labeled myocardial norepinephrine [ $^{125}$ I]MIBG, a radiolabeled analog of norepinephrine (NE), has recently been introduced for visualization of denervation of the heart [1, 2, 3]. Cardiac scintigraphic studies using [ $^{125}$ I]MIBG have demonstrated heterogeneous abnormalities in cardiac MIBG accumulation in diabetes, starting in the inferior segment and spreading to the adjacent segments with the progression of neuropathy. Thus, a superior-to-inferior count ratio is suitable for evaluation of this condition owing to its superior sensitivity [4]. However, the cause of this heterogeneous distribution of [ $^{125}$ I]MIBG remains unknown.

Received: 12 July 2001 / Accepted: 12 September 2001 / Published online: 12 October 2001  
© Springer-Verlag 2001  
Department of Pharmacological Therapeutics,  
Kyoto School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University,  
Yasakoe, Kyoto 605-8501, Japan  
e-mail: hiroi@phar.kyoto-u.ac.jp  
Tel.: +81-75-7534556, Fax: +81-75-7534568